

副腎性Androgen投与のラット血中ホルモンおよび腔上皮シアル酸に及ぼす影響

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8982

副腎性 Androgen 投与のラット血中ホルモンおよび 腔上皮シアル酸に及ぼす影響

金沢大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 西田悦郎教授)

大 崎 勝 三

(昭和57年3月17日受付)

女性における副腎性 androgen の作用の詳細を検索する目的で、両側卵巢摘除および非摘除正常ラットを用い、種々量の dehydroepiandrosterone acetate (DHA - Ac) 投与時の血清中 follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), prolactin (PRL), シアル酸 (SA) 濃度の変動および腔と子宮組織中の SA 濃度を測定し、比較検討した。DHA - Ac の 1 日投与量は、2, 5 および 20 mg とし、投与日数は 3 日間および 7 日間連続投与した。血清中の FSH, LH, PRL 濃度の測定には radioimmunoassay 法を用い、血清および組織中の SA 濃度は加水分解後、resin column にて抽出して thiobarbituric acid 法を用いて測定した。DHA - Ac 投与により血清中 FSH は中等度に減少し、血清中 LH は著明な減少を示した。血清中 PRL は著明に増加したが、ピークを午後 3 時に有し、その他の時間はコントロール値にとどまるものであった。血清中 SA 値は DHA - Ac 投与により軽度減少した。腔組織中の SA は、DHA - Ac 投与により以下のような変化を示した。すなわち両側卵巢摘除ラットでは、コントロール群は $39.1 \pm 5.2 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ (Mean \pm S.E.) であったが、5 mg/日を 3 日および 7 日間投与するとそれぞれ 70.6 ± 5.4 , $108.6 \pm 5.5 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ であり、20 mg/日を 3 日および 7 日間投与ではそれぞれ 45.9 ± 1.1 , $42.8 \pm 3.0 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ であった。これは腔組織内の SA 濃度は一定量までの DHA - Ac 投与では急増加するが、その量を越えた投与では逆に減少することを示している。卵巢非摘除ラットでは腔組織中の SA 濃度は、コントロール群で $34.3 \pm 1.6 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ で、DHA - Ac 投与では 5 mg/日を 3 日および 7 日間投与で 36.4 ± 2.5 , $83.1 \pm 5.0 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$, 20 mg/日を 3 日および 7 日間投与では 38.2 ± 3.1 , $92.9 \pm 3.5 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ であった。これは、DHA - Ac 投与量と腔組織内 SA 濃度との関係が、卵巢の有無により影響を受けることを示している。腔組織内の SA 濃度を測定することにより、DHA - Ac 投与によって起こる腔上皮 mucification の程度が定量的に表現され得ることが示された。

Key words Sialic acid, Vaginal mucification, Dehydroepiandrosterone, Proteohormone.

女性においては閉経後も sex steroid が分泌され、性器および性器外 (extragenital) に作用を及ぼしている。閉経後では卵巢からの progesterone の分泌は直ちに停止し、estrogen の分泌機能は閉経後数年にして消失する。すなわち、閉経後数年を経た女性では、卵巢を摘除しても血中尿中の estrogen 量に変動は認められな

い^{1),2)}。

一方、閉経後女性における唯一の sex steroid 分泌臓器である副腎皮質からは、閉経後も閉経と無関係に副腎性男性ホルモン adrenal androgen がかなり多量に分泌されている。この副腎性 androgen が閉経後の性ホルモンの前駆物質 (precursor) として作用しており、

Effects of Administration of Dehydroepiandrosterone Acetate on Serum Proteohormone Levels and Sialic Acid Concentrations of Genital Organs. Shozo Oosaki, Department of Obstetrics and Gynecology, (Director: Prof. E. Nishida), School of Medicine, Kanazawa University.

その消長により閉経後女性の内分泌環境は大きな影響を受けている^{31)~32)}。

われわれはこれら女性における副腎性 androgen の動態、性器・性器外に及ぼす生物学的作用および生理学的意義などについて、一連の研究を行なってきた^{10)~24)}、その生物学的作用の一つに膺上皮に及ぼす影響がある^{10,19),22)}。ヒトにおいては膺上皮は卵巣機能とくに estrogen の影響を強く受けるが、閉経後は卵巣由来の estrogen が消失しても膺上皮の萎縮はさほど急激には進行しない。

臨床的にいわゆる老人性陰炎 (colpitis senilis) ないしは萎縮性陰炎とよばれる状態の起こる率は、50—54 歳 21%、55—59 歳 30%、60—64 歳 43%、65—69 歳 41%、70 歳代 60% であり、閉経後 10—20 年を経ても約半数の女性は十分な厚さの膺上皮を保持している。すなわち、萎縮性陰炎のない十分な厚さの膺上皮を保持している女性の比率は、閉経前の 40 歳代は 100% であり、50—54 歳 79%、55—59 歳 70%、60—64 歳 57%、65—69 歳 59%、70 歳代 40% であるが²⁵⁾、この減少パターンは、副腎性 androgen 各分画の総値を代表する 11-deoxy-17-ketosteroid (11-deoxy-17-KS) の血中濃度の年齢的推移の各年代平均値、35—39 歳 107 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、40—44 歳 109 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、45—49 歳 105 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、50—54 歳 84 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、55—59 歳 72 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、60—64 歳 55 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、65—69 歳 60 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、70—74 歳 45 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、75—79 歳 55 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、80 歳代 32 $\mu\text{g}/\text{dl}$ の減少パターンと甚だよく一致している¹⁷⁾。このことから、閉経後の膺上皮に副腎性 androgen の消長が密接に関与していることが推測される。

われわれは副腎性 androgen の膺上皮に及ぼす影響の詳細を検索する目的で、副腎性 androgen の主要分画である dehydroepiandrosterone (以下 DHA と略) を閉経後女性および両側卵巣摘除ラットに投与し、その投与量や投与期間などによる膺上皮の形態学的変化について、組織化学的、電子顕微鏡学的に検討し、DHA 投与により膺上皮の肥厚やその他の著明な変化の生ずることを確認しているが^{19),22),45)}、この変化は estrogen 投与による変化とは明らかに異なっている部分がある^{26)~30)}。Estrogen 投与の場合と異なる最も著しい変化は、膺上皮中層および表層細胞内の著明な粘液形成 (mucification) である。この DHA 投与によって生ずる mucification の発現機序などについては、未解明の点が極めて多い。嚙歯類における mucification の形態学的検索については、われわれの研究などによってもある程度明らかにされつつあるが^{31),32)}、生化学あるいは量的解析の面からの検索も行なわれている^{33)~35)}。

本研究は、膺上皮における DHA 投与による変化、と

くに mucification の程度を量的な変数としてとらえ、DHA 量と mucification の度合との相互関係を検討し、形態学的研究を補充する目的で企画された。化学的測定物質としてはいくつかのものが検討されたが、mucopolysaccharide や glycoprotein の成分であり、重要な生物学的意義を有すると予想されているシアル酸 (sialic acid, 以下 SA と略) がその代表として選択された^{36)~40)}。

両側卵巣摘除ラットに種々量の DHA を投与したときの膺上皮中 SA 含有量を測定し、その場合の組織化学的染色法による膺上皮の形態学的変化と比較した。また、その場合における血清 SA の変動についても検討を加えた。さらに、種々量の DHA 投与時の血清 follicle stimulating hormone (以下 FSH と略)、luteinizing hormone (以下 LH と略)、prolactin (以下 PRL と略) 濃度の変化について検討し、DHA と下垂体性 gonadotropin との関連性およびそれらと膺上皮 SA との関連性についても考察を加えた。

材料および方法

実験動物は体重 140 g 前後の Wistar 系雌ラットを用い、各種実験群 1 群の匹数は原則として 5 匹とし、群の組分けには各群および対照群間で生後日数および体重が平均化するように留意した。卵巣摘除ラットとしては、ether 麻酔下に背部より両側卵巣を摘除し、3 週間放置したものをを用いた。Dehydroepiandrosterone (DHA) としては DHA acetate (DHA-Ac) の 50 mg/ml 油溶液を用いた。ホルモン非投与の対照群には oil solvent 0.2 ml を注射した。

組織中および血清中 SA の分離定量には、次のごとき酸による加水分解、比色定量法を用いた。摘出した各組織の湿重量測定の後、一部を形態学的検索用にとり、残部を SA 測定に供した。

SA 量測定は、まず試料を homogenize 用試験管にとり、0.1 N 硫酸 1 ml を加え、冷水中にて冷却しながら充分 homogenize した。これを 0.1 N 硫酸 5 ml を使用して、水解用封試験管中に全試料を移し、80°C で 1 時間加水分解を行なった⁴¹⁾。これを遠心管に移し、回転半径 15 cm 3,000 rpm で 20 分間遠心し、上清のすべてを予め作られた Dowex の column に移した。

加水分解により遊離した SA を分離精製するための column は次のように作製された⁴²⁾。Ion exchange resin である Dowex 2 × 8 (200~400 mesh, 酢酸塩型, Dow Chemical Co.) の適量に 3 倍量の 2 N 塩酸を加え水溶液中で加温し、約 30 分間静置後上部のごり部分を廃棄する操作を 4 回行ない、これを filter 付ガラス管に移し、適量の 2 N 酢酸ナトリウム水溶液を数回

そそぎ、液中に Cl が検出されなくなったことを確認した後、これに 1 N 酢酸を充分そそいだ。このようにして準備した resin の一定量を、底部に glass filter をおいた内径 0.7×高さ 20 cm の chromatography 用ガラス管に入れ、高さ 6 cm になるようにした。この量は約 3 g であった。これを使用前に 0.1 N 酢酸 10 ml で洗滌してから用いた。

このようにして作製された column に試料を移した後、10 ml の蒸留水で 2 回洗滌し、8 ml の pH 4.6 の 1 M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液で SA を溶出した。なお column の再使用に際しては各 10 ml の 2 N 水酸化ナトリウム水溶液、0.1 N 酢酸で順次洗滌して用いた。また、このようにすれば充分再使用しうることを予め確かめた。

SA の呈色反応には thiobarbituric acid (TBA) 法を用いたが²³⁾、本法では試料の量が 0.2 ml と比較的微量であるために、一定濃度以上の SA を含む被検液でないとい測定感度以下になる。すなわち本研究では、SA の溶出に 8 ml の酢酸緩衝液を用い、8 ml 全量うちの 0.2 ml を呈色反应用試料としたのでは SA 濃度が稀薄すぎることが多く、種々の方法で濃縮を試みたが、満足すべき再現性ある値は得難かった。

そこで大量の試料または SA の主成分である N-acetylneuraminic acid (NANA) を用いて、これらの column における流出パターンを検討した。すなわち 8 ml の酢酸緩衝液で溶出した場合は、溶出液を 0.2 ml ずつ順次 40 本のガラス栓付試験管にとり、これらを、TBA 法による呈色反応を行なって溶出曲線 (elution curve) を描き検討を加えた。その結果、第 7 本目すなわち 1.4 ml までの溶出液にはほとんど SA は検出されず、第 11~12 本目を peak として第 9~15 本目の間に大部分が溶出して、その後の溶出液に含まれる SA 量はごくわずかであった。したがって、実際の測定に当っては、溶出液の最初の 1.4 ml (7 本分) を測定から除き、その後の 2.4 ml (第 8~19 本の 12 本分) を測定試料とした。このようにして定めた測定試料 2.4 ml のうち 0.2 ml について呈色反応を行ない、得られた値を試料中の SA 値とした。また、腔上皮を試料としてこのようにして得られた呈色物質の吸光度は 549 m μ で最大吸収を示し、NANA のそれとよく一致しており、したがって充分満足すべき結果が得られるものとみなされた。定量には NANA を標準物質として 549 m μ で測定し、算出した。

血清中 SA 量は、血清 0.1 ml を 0.1 N 硫酸 4 ml 中に滴下混和し、80°C で 1 時間加水分解後その 0.2 ml をとり、TBA 法により呈色定量された。

組織学的検索には、hematoxyline-eosin (H. E.)

染色法、periodic acid Schiff (PAS) 反応、mucicarmine (CM) 染色法、alcian blue (AB) 染色法などが用いられた。

PRL, FSH, LH の測定にはラット用 radioimmunoassay kit (NIAMDD, National Institute of Arthritis, Metabolic and Digestive Disease, U.S.A.) を用い、二抗体法により測定を行い、蛋白体ホルモン¹²⁵I による標識には Chloramine T による方法を用い、なお精製には Bio-Gel P-60 (BIO-RAD Labor.) を用いた。なお、FSH, LH 濃度はそれぞれ NIH-FSH-S 1, NIH-LH-S 1 を標準として $\mu\text{g/ml}$, ng/ml として表現した。

成 績

1. DHA-Ac 投与の腔上皮 SA 濃度に及ぼす影響

1. 両側卵巣摘除ラットにおける影響

両側卵巣摘除ラットに DHA-Ac を 1 日それぞれ 5 mg, 20 mg を 7 日間連続注射した場合の腔上皮内 SA 濃度の変化は、図 1, 2 に示すごとくであった。

5 mg 投与の場合は図 1 に示すごとく、DHA-Ac 非投与対照群、3 日間投与群、7 日間投与群の腔上皮内 SA 濃度は、それぞれ 39.1 ± 5.2 , 70.6 ± 5.4 , $108.6 \pm 5.5 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ (Mean \pm S. E.) であり、投与日数の増加と共にほぼ直線的に増加した。この場合の組織学的所見では、対照群は腔上皮は 2~3 層と菲薄であり、PAS 染色では陽性物質を認めなかったが、alcian blue で青色に染まる部分が表層の細胞内に認められ、mucicarmine 染色でも表層に赤色に染まる部分が認められた。深層細胞では、それらの染色陽性物質は認められなかった。

DHA-Ac 5 mg 3 日間投与群では細胞層は 5~10 層と増加し、表層および中層は著明な mucification 像を示し、この部分は PAS 染色および alcian blue 染色で強い陽性像を示した。なお mucicarmine 染色では表層のみに陽性所見が認められた。深層細胞には mucification およびこの染色陽性物質は全く認められなかった。

DHA-Ac 5 mg 7 日間投与群では細胞層は 15~20 層と増加し、mucification もさらに著明となったが、深層細胞の 1~2 層には著変は認められなかった。各種染色所見も 3 日間投与群とそれぞれ同様の傾向を示した。

これらの所見と腔上皮内 SA 濃度とを比較すると、SA 濃度の上昇傾向に最も一致するとみなされたのは、alcian blue 陽性物質であり、次いで PAS 反応陽性物質の範囲と陽性度の強さが SA 濃度の変動とよく平行する傾向が認められた。それらに比し、mucicarmine

染色の程度は SA 濃度の増加の状態を反映しなかった。

DHA - Ac 20 mg 投与の場合の腔上皮内 SA 濃度の変化は図 2 に示すごとくであった。すなわち 3 日間投与群、7 日間投与群の SA 濃度はそれぞれ平均 45.9 ± 1.1 , $42.8 \pm 3.0 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ で、対照群の $39.1 \pm 5.2 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ に比して軽度の上昇傾向は認められたが、著明な変化は認められなかった。組織像は、20 mg 3 日間投与群においては上皮細胞とくに表層細胞の角化が著しく、全層 6~10 層と増加し、estrogen 投与像に酷似しており、mucification は認められなかった。PAS 染色では表層細胞の一部に軽度陽性物質が認められるのみで、alcian blue 染色では陰性であった。7 日間投与群では同様の傾向がさらに増強され、全層 10~15 層と増加し、PAS 染色もほとんど陰性であった。

これら、DHA - Ac 投与の全期間における総投与量と腔上皮内 SA 濃度との関連性を図示してみると、図 3 のごとくであり、総量 30~40 mg までは SA 濃度は急増したが、総量 50 mg をこえると SA 濃度は逆に急減し、ほぼ投与前の値を示した。

2. 正常ラットにおける影響

DHA - Ac 投与量と腔上皮内 SA 濃度との関連性を卵巣非摘除の正常ラットについて検索し、両側卵巣摘除ラットの場合と比較した。

まず、正常性周期各期における腔上皮内 SA 濃度を測定したところ、estrus, diestrus 1, diestrus 2, pro-

estrus における SA 濃度は、それぞれ平均 34.3 ± 1.6 , 34.0 ± 5.2 , 35.6 ± 2.2 , $35.4 \pm 2.7 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ であり、ほぼ同じレベルであった。proestrus では diestrus 1 に比し、腔上皮は肥厚し腔上皮全体の SA 含有量はある程度増加したが、単位重量当りの濃度には著変はなかった。

DHA - Ac 投与は、estrus を対照としその時期から投与を開始した。5 mg 3 日間投与群では腔上皮内 SA 濃度は、平均 $36.4 \pm 2.5 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ で、対照群 estrus の $34.3 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ に比し軽度上昇傾向を示したが、著変は認められなかった。5 mg 7 日間投与群では平均 $83.1 \pm 5.0 \mu\text{g}/100 \text{mg}$ と増加した。組織像は、5 mg 3 日間投与群ではほぼ estrus の像と同様で、mucification を認めず、PAS 染色もごく軽度に陽性であった。5 mg 7 日間投与群では上皮細胞層は約 10 層となり、基底層

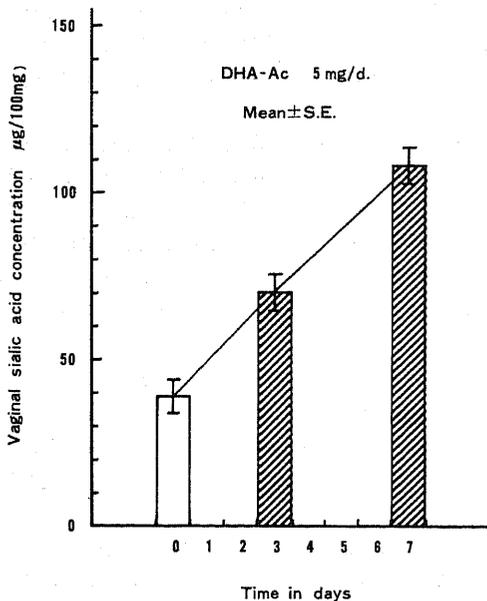


Fig. 1. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate (5mg/d.) on vaginal sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

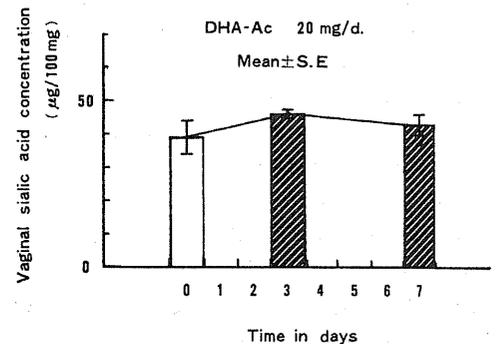


Fig. 2. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate (20mg/d.) on vaginal sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

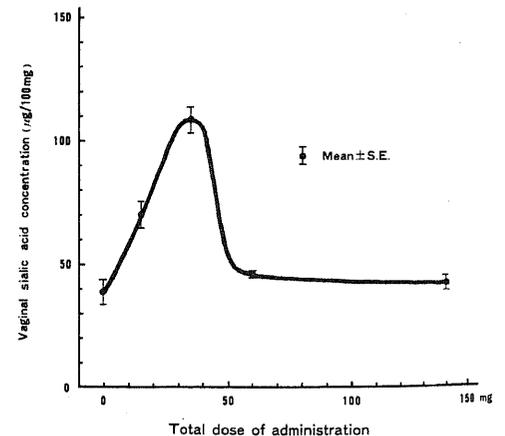


Fig. 3. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on vaginal sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

の1~2層を残して表層, 中層細胞は著明な mucification と PAS 陽性像が認められた。

20 mg 投与群では3日間投与群, 7日間投与群の腔上皮内 SA 濃度は, それぞれ平均 38.2 ± 3.1 , 92.9 ± 3.5 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ で, 3日間投与群では対照群との間に著変がみられなかったが, 7日間投与群では著明な増加が認められた。組織像は, 3日間投与群では5 mg 投与群の場合と同様で著変はなかったが, 7日間投与群では腔上皮の著明な増大と強い mucification が認められた。

すなわち両側卵巢摘除ラットに DHA - Ac 20 mg を7日間投与した場合は, mucification は消失し角化状態となり, SA 濃度も対照値まで低下するのに反し, 正常ラットでは DHA - Ac 20 mg 7日間投与した場合強い mucification と SA 濃度の著増が認められた。

II. DHA - Ac 投与の子宮 SA 量に及ぼす影響

1. 両側卵巢摘除ラットにおける影響

両側卵巢摘除ラットに DHA - Ac を投与した場合の側子宮角重量は, 図4に示すごとく, 対照群, 5 mg 3日および7日間投与群, 20 mg 3日および7日間投与

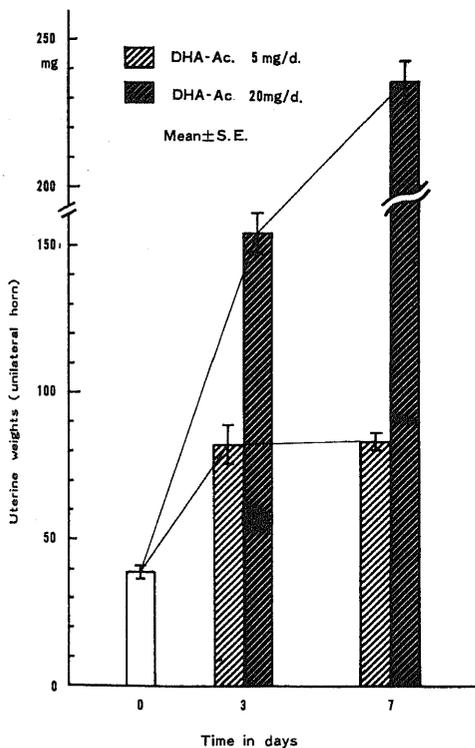


Fig. 4. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on uterine weights (unilateral horn) in biovariectomized rat.

群では, それぞれ平均 39.4 ± 2.2 , 82.2 ± 6.7 , 83.0 ± 3.1 , 153.8 ± 6.9 , $235.0 \pm 7.1 \text{ mg}$ であり, DHA - Ac 投与総量が増大するにしたがって重量は増加した。

また, その場合の側子宮角の SA 総含有量は, 図5に示すごとく, それぞれ平均 18.2 ± 0.7 , 30.2 ± 1.5 , 22.4 ± 2.0 , 48.0 ± 2.4 , $101.8 \pm 6.3 \mu\text{g}$ であり, 5 mg 投与ではその増加は著明ではなかったが, 20 mg 投与では投与日数の増加と共に著増した。

単位重量当りの SA 濃度の平均値は図6のごとく, それぞれ 46.9 ± 3.3 , 37.3 ± 2.3 , 27.1 ± 2.4 , 31.2 ± 1.0 , $43.2 \pm 1.8 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$ であり, DHA - Ac 投与量の増加と共にある程度まで漸減し, それ以上の投与量では逆に漸増し, 投与前の濃度に近い値を示す傾向が認め

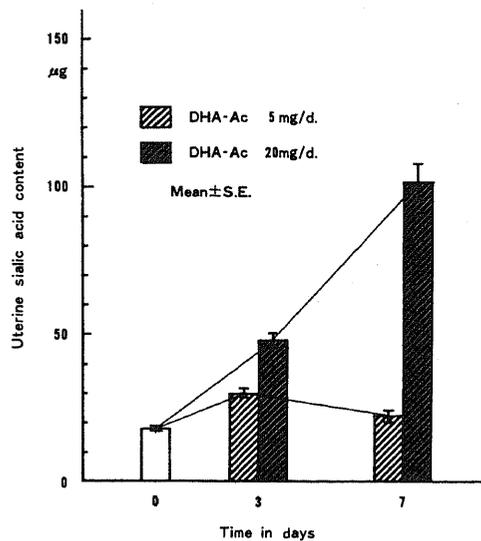


Fig. 5. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on uterine sialic acid content in biovariectomized rat.

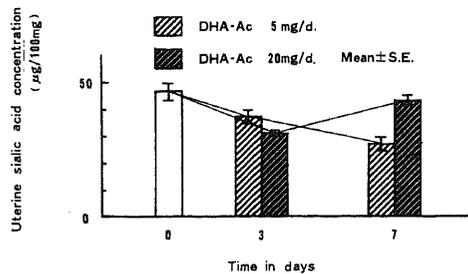


Fig. 6. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on uterine sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

られた。子宮 SA 濃度と投与総量との関係を図示すると図 7 のごとくであった。

2. 正常ラットにおける影響

まず、正常ラットの性周期各期における子宮重量および SA 含有量を測定し、各期 SA 濃度を比較した。なお、測定は両側子宮角と頸部に分けてはなされた。

子宮両側角重量は、estrus, diestrus 1, diestrus 2, proestrus 各期においてはそれぞれ平均 346.2 ± 15.1 , 271.7 ± 31.8 , 233.3 ± 31.8 , 369.5 ± 45.5 mg であり、SA 総含有量は 109.0 ± 7.3 , 115.0 ± 7.6 , 115.0 ± 14.0 , 170.0 ± 10.0 μ g であった。SA 濃度は 31.4 ± 1.2 , 43.1 ± 4.1 , 49.5 ± 0.9 , 40.7 ± 2.4 μ g/100 mg で、diestrus においてやや増加する傾向を示した。

子宮頸部もほぼ同様の傾向を示し、estrus, diestrus 1, diestrus 2, proestrus 各期において、重量はそれぞれ平均 124.8 ± 5.4 , 89.7 ± 3.2 , 78.7 ± 10.8 , 160.5 ± 14.3 g であり、SA 総含有量は 32.8 ± 2.1 , 31.0 ± 3.2 , 26.0 ± 2.3 , 44.8 ± 2.8 μ g であり、SA 濃度は 26.2 ± 1.0 , 34.6 ± 3.3 , 33.5 ± 1.9 , 28.6 ± 3.1 μ g/100 mg で

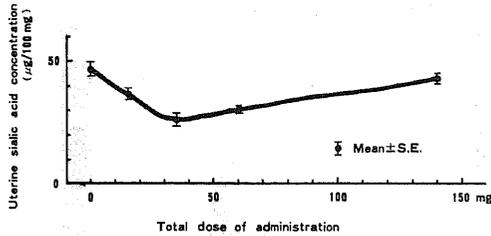


Fig. 7. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on uterine sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

あった。

DHA - Ac を投与した場合は、表 1 に示すごとく、子宮重量は増大し、SA 総含有量も同傾向をもって増加した。SA 濃度は軽度上昇した。子宮体部も頸部も同様の傾向を示した。

III. DHA - Ac 投与の血清 SA 濃度に及ぼす影響

1. 両側卵巣摘除ラットにおける影響

両側卵巣摘除ラットに DHA - Ac 1 日量 2, 5, 20 mg を 3 日および 7 日間投与した場合の血清 SA 濃度の変動は、図 8 に示すごとくであり、いずれも低下傾向を示した。DHA - Ac 投与総量と血清 SA 濃度との関係は、図 9 のごとくであり、投与総量の増加と共に血清 SA 濃度はより強く低下する傾向が示された。すなわち血清 SA 濃度は、DHA - Ac 非投与対照群、DHA - Ac 2 mg 3 日間、7 日間各投与群、5 mg 3 日間、7 日間各投与群、20 mg 3 日間、7 日間各投与群ではそれぞれ平均 110.8 ± 6.3 , 99.4 ± 7.3 , 93.4 ± 9.1 , 96.3 ± 5.5 , 99.9 ± 3.5 , 86.3 ± 5.5 , 70.8 ± 5.4 mg/dl であった。

2. 正常ラットにおける影響

正常ラットにおける血清 SA 濃度は、estrus, diestrus 1, diestrus 2, proestrus 各期において、それぞれ平均 98.5 ± 2.5 , 97.5 ± 2.4 , 99.8 ± 3.0 , 105.5 ± 5.3 mg/dl で、ほぼ同様の値を示したが、proestrus においてやや高値を示す傾向がみられた。卵巣を摘除した場合には血清 SA 濃度は上昇した。

DHA - Ac 1 日量 5, 20 mg を 3 日および 7 日間投与した場合の正常ラット血清 SA 濃度は、DHA - Ac 非投与対照群の estrus 期、5 mg 3 日間、7 日間各投与群、20 mg 3 日間、7 日間各投与群では、それぞれ平均 98.5 ± 2.5 , 95.8 ± 5.3 , 74.5 ± 2.9 , 86.7 ± 3.0 , $68.9 \pm$

Table 1. Effects of administration of DHA-Ac on uterine SA concentration in normal cyclic rat.

Uterus		Control (estrus) N = 6	DHA-Ac			
			5 mg/d.		20 mg/d.	
			3 d.* N = 4	7 d.** N = 4	3 d.* N = 4	7 d.** N = 4
corpus (bicorn)	Wet weight (mg)	346.2 ± 15.1	517.6 ± 8.3	435.8 ± 13.2	459.4 ± 16.5	509.0 ± 18.3
	SA content (μ)	109.0 ± 7.3	237.5 ± 6.3	227.5 ± 7.6	22.0 ± 4.1	280.0 ± 10.8
	SA concentration (μ /100mg)	31.4 ± 1.2	46.2 ± 1.1	52.7 ± 3.1	48.8 ± 1.6	55.3 ± 1.1
cervix	Wet weight (mg)	124.8 ± 5.4	162.8 ± 3.3	159.2 ± 9.4	154.0 ± 9.1	192.0 ± 4.8
	SA content (μ)	32.8 ± 2.1	58.0 ± 8.3	78.8 ± 5.2	59.0 ± 1.7	81.3 ± 3.8
	SA concentration (μ /100mg)	26.2 ± 1.0	35.9 ± 4.8	52.2 ± 2.5	38.4 ± 3.2	41.7 ± 1.2

* DHA-Ac administrated for 3 days.

** DHA-Ac administrated for 7 days.

(Mean \pm S.E.)

5.4 mg/dl であり, DHA - Ac 投与量の増加と共に血清 SA 濃度は低下した。

IV. DHA - Ac 投与の血清 gonadotropin 値に及ぼす影響

FSH, LH はその構成成分として SA を含んでおり^{59),60)-68)}, また, PRL は腔上皮 mucification に対する卵巣を介さない直接作用の有無が論ぜられている⁷⁸⁾⁻⁸⁰⁾。

DHA - Ac 投与時のそれらの変動を検索する目的で, 血清 FSH, LH, PRL 値の変動を測定した。両側卵巣

摘除ラットに, DHA - Ac 1日5, 20 mg を3日および7日間投与した場合の血清中 FSH および LH 値の変動は, 図 10, 11 に示すごとくであった。

血清 FSH 値は, DHA - Ac 非投与対照群, 5 mg 3日間, 7日間各投与群, 20 mg 3日間, 7日間各投与群では, それぞれ平均 4.36 ± 0.22 , 3.79 ± 0.19 , 2.79 ± 0.25 , 2.99 ± 0.16 , $2.70 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$ であり, DHA - Ac 投与により低下, 投与量の増加と共に減少傾向は強

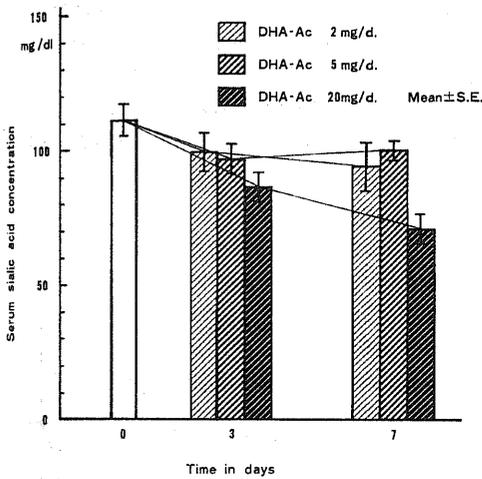


Fig. 8. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on serum sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

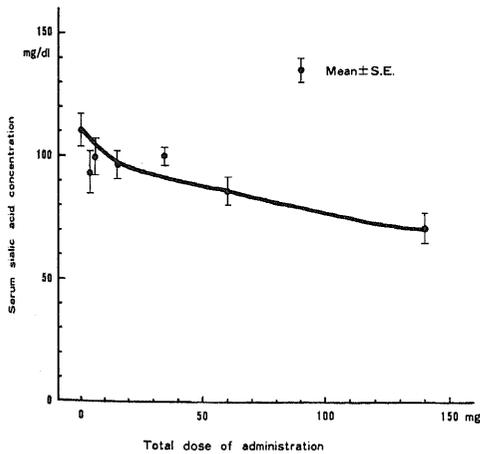


Fig. 9. Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on serum sialic acid concentrations in biovariectomized rat.

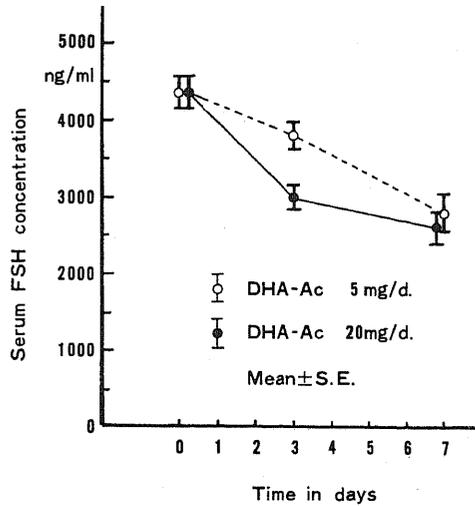


Fig. 10. Effects of dehydroepiandrosterone acetate administration on serum FSH concentrations in biovariectomized rat.

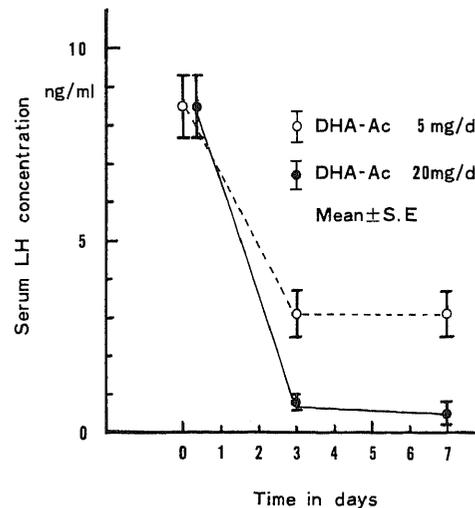


Fig. 11. Effects of dehydroepiandrosterone acetate administration on serum LH concentrations in biovariectomized rat.

くなくなった。

血清 LH 値は, DHA - Ac 非投与対照群, 5 mg 3 日間, 7 日間各投与群, 20 mg 3 日間, 7 日間各投与群では, それぞれ平均 8.5 ± 0.8 , 3.1 ± 0.6 , 3.1 ± 0.6 , 0.8 ± 0.2 , 0.5 ± 0.3 ng/ml であり, DHA - Ac 投与により LH 値は急激な低下を示した。

血清 PRL 値については, DHA - Ac 注射後の血清 PRL を経時的にまず検索した。すなわち, 両側卵巢摘除ラットに午前 11 時に DHA - Ac 注射を行なった後, 翌日 2 時間毎に屠殺採血して測定を行ない, DHA - Ac 非投与対照群の値と比較検討した。

DHA - Ac 20 mg を 3 日間投与し, 第 4 日目の午前 11 時からの血清 PRL 値の推移は, 図 12 に示すごとくであり, 11 時および 13, 15, 17, 19 時の PRL 値は,

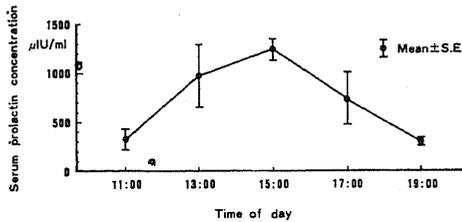


Fig 12. Serum concentration after injection of dehydroepiandrosterone acetate in biovariectomized rats (on 3rd day during administration).

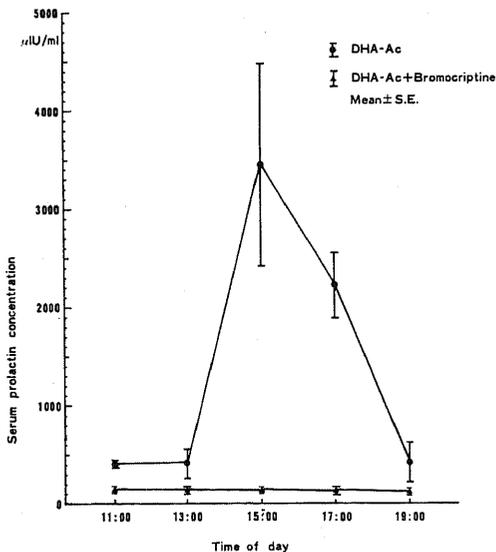


Fig. 13. Effects of bromocriptine on serum prolactin concentration after injection of dehydroepiandrosterone acetate in biovariectomized rats (on 7th day during administration).

それぞれ平均 321 ± 110 , 975 ± 324 , 1242 ± 108 , 744 ± 284 , 304 ± 35 μ IU/ml であり, 13 時に上昇の peak があり, その後は低下し, 19 時には 11 時の値に復した。

DHA - Ac 20 mg を 7 日間連続して投与したのち第 8 日目の経時的変化は, 図 13 に示すごとくであり, 11 時および 13, 15, 17, 19 時の PRL 値は, それぞれ平均 400 ± 42 , 444 ± 146 , 3469 ± 1029 , 2231 ± 335 , 418 ± 178 μ IU/ml であり, 上昇傾向は DHA - Ac 20 mg 3 日間投与群と同様であったが, peak 値は上昇度で約 3 倍の高値を示した。

また, DHA - Ac 投与による血清 PRL 値上昇に対する Bromocriptine (2-bromo- α -ergocryptine, 以下 BrC と略) の影響を見る目的で, BrC を屠殺する前日および当日の午前 11 時に各 1 mg, 計 2 mg を注射した。その結果は, 図 13 に併記されているごとく, 上記各時における PRL 値は, 142 ± 2.2 , 133 ± 5.3 , 144 ± 2.2 , 140 ± 5.0 , 130 ± 1.4 μ IU/ml と抑制され, 上昇を

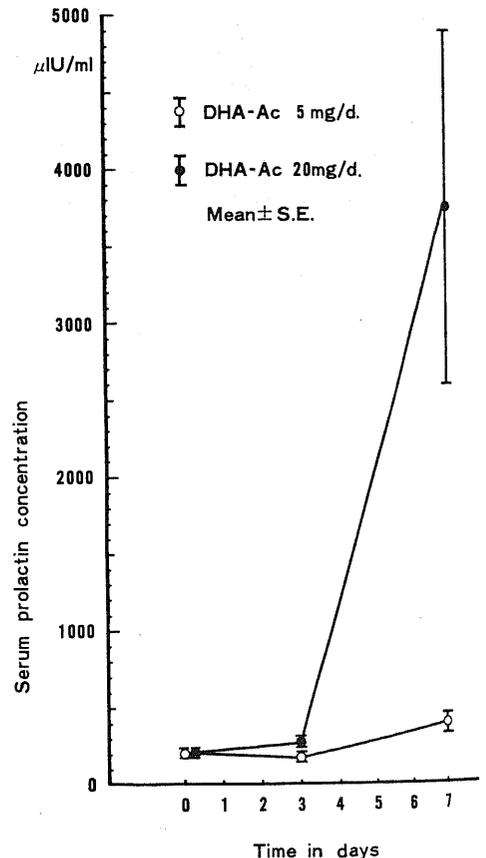


Fig. 14. Effects of dehydroepiandrosterone acetate administration on serum prolactin concentration in biovariectomized rat.

示さなかった。

両側卵巢摘除ラットに DHA - Ac 1 日 5, 20 mg を 3 日および 7 日間投与した場合の各群の 15 時における血清 PRL 値は、図 14 に示すごとくであった。DHA - Ac 非投与対照群 5 mg 3 日間, 7 日間各投与群, 20 mg 3 日間, 7 日間各投与群では、それぞれ平均 223 ± 15 , 195 ± 25 , 408 ± 65 , 286 ± 29 , $3720 \pm 1166 \mu\text{IU/ml}$ であった。

考 察

加齢 (aging) ないし老化という生物の本質的に有する現象は、産科婦人科学領域にも密接な関連性を有する重要な研究分野である。Aging は生命現象の重要な一属性であるので、その生理学的な面での研究は、窮極的には生命の本質の解明という問題にも一致するものである。そのような観点から aging の研究は生命現象の研究といえる。

Aging という現象の解明には、個体生命、臓器生命、細胞生命の 3 つのレベルからの観察が有用な考究方法といえる。産科婦人科学領域では、ヒトにおける aging の研究に関しての多くの好条件に恵まれている。

まず、個体生命の面では、女性が男性より長寿であるという事実およびそのことの解明や、卵巢摘除後の性ホルモンの変動を女性において観察できることで aging に及ぼす性ホルモンの影響の有無を検索する機会に恵まれている。また、胎児の aging についても、短期間の間に急激な変化を観察することができる面で、産科婦人科領域は他の領域に比して種々の有利な面を有している。

臓器生命の面では、卵巢の機能開始の初経からいわば臓器生命の終焉であるといえる閉経、すなわち卵巢の死までを aging の研究対象とすることができ、このような個体の死以前に臓器の死を迎える臓器としては、卵巢が最も特徴的である。また胎盤も一臓器とすれば、分娩時の胎盤排出は胎盤の死とはいえないが、発生時から臓器使命を終えるまでを aging の面から観察できる。

細胞生命レベルでの aging の研究面では、他にも好材料を得やすい領域は多いが、婦人科領域での腔上皮の剝脱細胞は老化ないし死に到った細胞であり、その経過を経時的に詳細かつ極めて容易に観察することができ、また生検によりかなり頻回に腔上皮の組織学的検索をすることが可能である。この点から幼若細胞の分裂、成熟、老化などの過程を詳細に研究することが容易である。またヒト胎児の死亡直後における各臓器からの細胞を得やすいことも、細胞生命レベルでの aging の研究面において産科学領域が有利である。生理

的な老化ではないが、細胞生命レベルでの aging の研究面に関連性を有するヒト癌細胞の株化も子宮頸癌からのものが最初であったことは偶然とはいえ、この方面での研究においても婦人科学領域の有利性を暗示していると考えられる。

腔上皮の aging に関して、臨床面では閉経後一定期間を経ると、老人性腔炎ないしは萎縮性腔炎の状態となるが、腔上皮の萎縮ないし老化には 2 つの特徴がある²⁵⁾。すなわち 1 つは上皮の厚さの菲薄化であり、他は乾燥ないしは粘液の減少である。腔内容物としての粘液は頸管粘液や子宮内腔から流出してくるものも多いが、腔壁からのものもある。腔壁からの粘液は細胞内に存在し、それが排出するものもあるとみなされている。ヒトにおいても腔上皮細胞内に粘液性物質が存在するが、ラットではその存在と動態を観察することが容易である。われわれもそれらについていくつかの面から検討を加えてきており、腔上皮と性 steroid との関係については、上皮の角化を支配するのは estrogen であり、一方細胞内の粘液物質を増加させるのは progesterone または androgen であることを認めている^{44), 45)}。Estrogen 単独投与では腔上皮細胞内粘液は減少し、さらには消失し、progesterone 単独投与では、腔上皮内粘液物質は軽度増量するが、その作用は微弱である。あらかじめ少量の estrogen で priming しておくか、両者の混合投与を行えば progesterone の粘液増量作用は著明となる^{33)~35), 46)~49)}。Androgen では testosterone の投与でも粘液は増量するが^{26), 50)~52)}、DHA 単独投与することにより容易に強度の粘液増多を起すことができる^{19), 22)}。また、ラットではこのようにして生じた細胞内粘液物質は腔内腔に放出される。ヒトでは DHA 投与により腔上皮細胞内粘液物質は増加するが⁴⁵⁾、腔内に直接放出されるか否かは明らかではない。

閉経後の萎縮性腔炎は卵巢由来の estrogen 分泌の消失が主な要因であるとされているが、その発生頻度はさほど多くはなく、60 歳代後半でもなお半数以上のものは臨床症状を呈していない²⁵⁾。これは副腎性 androgen およびそれから convert される estrogen の作用とみなされ、加齢による血中 11 - deoxy - 17 - KS の減少パターンによく synchronize していることから、両者の間に密接な相関のあることが推測される。また、有夫女性では夫を欠く女性に比べ萎縮性腔炎の発現が少ないことから、局所的影響と共に種々の sexual stimuli が ACTH を分泌させ、副腎性 androgen 分泌を促進した影響も加わっているものとみなされる^{13), 24), 53)~55)}。

萎縮性腔炎の治療には、従来より estrogen 剤が使用

されているが、estrogen 剤の使用は子宮内膜癌や乳癌の発育を促進するともされ、また局所製剤として使用した時も estrogen の腔粘膜からの吸収が問題にされている。その必要最少量を決定することも一般に困難である。Estrogen 作用の弱い estriol 製剤使用においても問題のあることは本質的には同様とみなされる。

これらの点からわれわれは更年期障害や閉経後障害を有する女性に臨床的に欠乏 DHA の補充療法として DHA の投与を試みているが、満足すべき作用を示すものが少なくない結果を得ている³⁾。また DHA 補充療法で萎縮性炎症にも治療傾向がみられる。これらは、投与 DHA が生体内で androgen および estrogen としていわば bisexual な作用を呈するためと考えられ、その両者のバランスは投与量にもよるが、生体内でその時の状態に応じた適切なバランスをとる可能性が大きいと考えられ、製品として比率の決められている男女性混合ホルモン製剤投与よりは生体に対する危険は少ないものとみなされる。

しかし、DHA を投与した場合、生体にどのような作用を及ぼすかについては、なお詳細には究明されていない。腔における mucification についても、形態学的には組織化学を用いてその染色性の強弱より、いわば半定量的な検討は種々行なわれているが、生化学的な定量は広く行なわれていない。

DHA 投与によって起こる mucification の程度を定量的に判定するために、本研究では腔上皮内 SA を測定したが、mucification の形態学的変化と対比しても充分満足し得る結果が得られたものと思われされる。

SA は唾液腺中に最初に発見されたが^{56),57)}、各種臓器、粘液、血液、乳汁中など生体の多くの部位に広く分布していることが見出され、現在では重要な意義を有するものとされているが^{58),59)}、その詳細は充分解明されていない。産科婦人科学領域では、子宮内膜の分泌期において SA が重要な役割を有するものとされ、また頸管粘液の SA 含有量と精子通過性との間に密接な関連性が認められている^{60)~64)}。さらに卵子の透明帯の SA を除去すると、精子の透明帯通過が阻害されるとされている⁶⁵⁾。

FSH は約 5% の SA を含み、この SA を除去すると FSH は活性を失なう^{68),69)~68)}。LH の SA 含有量は 1% とされるが、FSH と同様に SA は LH の活性を保つのに重要だとされている⁶⁹⁾。また、卵巣摘除によりラット脳下垂体中の SA は FSH と共に増加する⁷⁰⁾。

ラットの正常性周期における腔の SA 濃度は、本実験では各周期ほぼ同値を示したが、diestrus においては estrus より高値とする報告もある^{33)~35)}。両側卵巣を摘除すると減少傾向を示した。このことは、estrogen が

SA 量減少作用を有していることを考え合わせると一応首肯できる。

両側卵巣摘除ラットで DHA 投与により腔上皮内 SA 量は著明に増加し、約 3 倍の濃度に達したが、一定の投与量を越えると逆に急減した。この変化は、投与 DHA - Ac 量が增量すると DHA より転換された estrogen 量が一定値を越え、SA 減少作用が強化されるためとみなされた。SA を定量的に測定することにより、DHA - Ac 投与量と mucification 形成度の関連性が数量的に明示された。

卵巣を有するラットでは、1日5および20mg投与群共に3日間の投与期間では腔上皮 SA 濃度には著変が認められず、7日間投与で初めて約2倍の増加がみられた。これは投与 DHA が一部卵巣で estrogen に転換され、その影響が現われたものと考えられる。

子宮内 SA について子宮角の SA 総含有量の変化をみると、DHA 投与量増加と共に増大した。これも DHA から転換した estrogen の作用のためとみなされた。

ホルモン投与時に生ずる腔上皮の著明な mucification や SA の增量などからみても、腔は単なる管腔ではなくいわば一つの臓器としての作用と変化を有しているものと考えられた。DHA は子宮と腔とでは反対に作用する面があり、SA 濃度や総量でも腔で高い時は子宮では低く、腔で低い時は子宮では高値を示す傾向がみられた^{35),71)~74)}。

血清 SA 濃度は DHA - Ac 投与量の増加と共に漸減したが、この減少が何を意味しているかは不明である。SA を含有する種々の血清 glycoprotein の DHA 投与による変動の総和として生じたものと考えられ、これには FSH の低下も関与しているであろう。また、内分泌学的には progesterone と結合し、これを運搬する作用なども有する α_1 -acid glycoprotein など 10% 以上の SA を含有するとされており^{75)~77)}、これも DHA 投与の影響を受けているものと考えられる。

これら各種の血清 glycoprotein の分析定量に関しては、ヒトでは免疫学的方法を用いて多数のものについての測定が可能であるが、ラットにおいてはヒトほど詳細な研究は行なわれていない。現段階ではこれらを総括して重要な物質とみなされる含有 SA 量を測定して推測するのが、比較的簡便な方法といえよう。

しかし、これら DHA 投与により変動する血清中 SA と腔上皮や子宮内に增量する SA との関連性の解明は今後の問題であろう。

DHA - Ac 投与により、血清 FSH は中等度に減少し、LH は急速に減少したが、これは DHA から転換された estrogen が両側卵巣摘除により上昇していた FSH および LH に対して negative feed back 的に作

用したものと解される。

DHA - Ac 投与により血清 PRL 値は 15 時に peak を有する上昇を示したが、11 時および 17 時は DHA 非投与群と同じ値にとどまっていた。この傾向は 3 日間注射後も 7 日間注射後においても同様のパターンを示したが、上昇の程度は 7 日間注射後の方が甚だ強く、DHA - Ac 投与を反復することにより PRL 上昇の反応性が亢進することがうかがわれた。また、この DHA 投与による PRL 上昇が BrC の前投与で完全に抑制されることは、これらの機序に中枢が関与していることを示唆していると考えられた。

なお、PRL が直接腔上皮 SA 量を増加するとの報告もあるが^{79)~81)}、本研究ではその可能性の有無については不明であった。

DHA 投与による各組織内 SA の変動に関する検索は、副腎性 androgen の生理学的意義の一部を解明する上で重要であり、多くの示唆を与えてくれるものと思われた。

結 論

種々量の dehydroepiandrosterone acetate (DHA - Ac) を投与した場合の両側卵巣摘除および非摘除ラットの血中 FSH, LH, PRL, SA 値、および腔上皮、子宮組織内 SA 濃度に及ぼす影響を検索し、投与量、卵巣の有無、腔上皮の形態学的変化などとの関連性について種々の面から検討し、考察を加えた。

両側卵巣摘除ラットに DHA - Ac を投与した場合、非投与対照群、DHA - Ac 1 日 5 mg 3 日間投与群、同 7 日間投与群、20 mg 3 日間、7 日間投与群においては、血清 FSH 値はそれぞれ 4.36 ± 0.22 , 3.79 ± 0.19 , 2.79 ± 0.25 , 2.99 ± 0.16 , 2.70 ± 0.21 $\mu\text{g/ml}$ (Mean \pm S.E.) であり、DHA - Ac 投与量の増加と共に減少する傾向が認められた。血清 LH 値はそれぞれ平均 8.5 ± 0.8 , 3.1 ± 0.6 , 3.1 ± 0.6 , 0.8 ± 0.2 , 0.5 ± 0.3 ng/ml とかなり強い抑制が示された。血清 PRL 値はそれぞれ平均 223 ± 15 , 195 ± 25 , 408 ± 65 , 286 ± 29 , 3720 ± 1166 $\mu\text{IU/ml}$ であり、DHA - Ac 投与により血清 PRL 値は上昇した。

また、DHA - Ac 注射後 2 時間毎に経時的に血清 PRL 値を測定した結果では、15 時を peak とする上昇を有しており、11 時、17 時では DHA - Ac 非投与群と同じ値にとどまっている変動を認めた。7 日間連続注射した後の peak 値は、3 日間投与のそれに比し約 3 倍の上昇を示した。なおこの上昇は Bromocriptin の投与により完全に抑制された。

血清 SA 値は、両側卵巣摘除ラットの場合では前記各群においてそれぞれ 110.8 ± 63 , 96.3 ± 5.5 , 99.9 ± 3.5 ,

86.3 ± 5.5 , 70.8 ± 5.4 mg/dl であり、投与量の増加と共に漸減した。正常ラットでは、estrus, diestrus 1, 2, proestrus 各期の血清 SA 値はそれぞれ 98.5 ± 2.5 , 97.5 ± 2.4 , 99.8 ± 3.0 , 105.5 ± 5.3 mg/dl でほぼ同じレベルの値を示し、DHA - Ac 各投与群ではそれぞれ 95.8 ± 5.3 , 74.5 ± 2.9 , 86.7 ± 3.0 , 68.9 ± 5.4 mg/dl と減少を示した。

腔上皮 SA 濃度に及ぼす DHA - Ac 投与の影響については、両側卵巣摘除ラットでは前記各群においてそれぞれ 39.1 ± 5.2 , 70.6 ± 5.4 , 108.6 ± 5.5 , 45.9 ± 1.1 , 42.8 ± 3.0 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ であり、ある DHA - Ac 投与量までは投与量の増加と共に腔上皮内 SA 濃度は急増したが、それを越えると急速に減少した。正常ラットでは estrus, diestrus 1, 2, proestrus 各期の腔上皮内 SA 濃度はそれぞれ 34.3 ± 1.6 , 34.0 ± 5.2 , 35.6 ± 2.2 , 35.4 ± 2.7 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ でほぼ同値を示し、卵巣を有する正常ラットに DHA - Ac 投与した群ではそれぞれ 36.4 ± 2.5 , 83.1 ± 5.0 , 38.2 ± 3.1 , 92.9 ± 3.5 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ で、5, 20 mg 投与群共に 7 日間投与において著明な増加を示した。DHA - Ac 投与の腔上皮内 SA 濃度に及ぼす影響については、卵巣の有無により影響が異なることが明らかにされた。

子宮組織内 SA 濃度に及ぼす DHA - Ac 投与の影響については、両側卵巣摘除ラットでは前記各群においてそれぞれ 46.9 ± 3.3 , 37.3 ± 2.3 , 27.1 ± 2.4 , 31.2 ± 1.0 , 43.2 ± 1.8 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ であり、投与量の増加と共に漸減するが、一定量以上の投与量では逆に漸増する傾向が認められた。正常ラットでは estrus, diestrus 1, 2, proestrus 各期の子宮内組織 SA 濃度はそれぞれ 31.4 ± 1.2 , 43.1 ± 4.1 , 49.5 ± 0.9 , 40.7 ± 2.4 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ で、diestrus において増加する傾向を認め、DHA - Ac 投与各群では、 46.2 ± 1.1 , 52.7 ± 3.1 , 48.8 ± 1.6 , 55.3 ± 1.1 $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ で軽度上昇した。

DHA 投与時の腔上皮 mucification の程度を腔上皮内 SA を測定することにより定量的に表現することができるものとみなされ、また生体に重要な生理学的作用を有すると推定される SA が腔上皮に多量に含まれ、DHA などのホルモンにより種々の変動を示すことから、腔が単なる管腔ではなくいわば一つの臓器としての役割を果すことが示唆され、さらに DHA は生体内の種々の状態下において androgen 作用と estrogen 作用の両者の微妙なバランスを保ちながら作用していることが推測された。

終わりに指導と校閲をいただいた西田悦郎教授に感謝し、種々御協力いただいた山田、寺田、杉田、細野各教官、穴田、相川、中川、荒木各技術員に感謝致します。なお、種々御教示いただいた本学生化学第一講座米山教授、伊藤教官に感謝

致します。

文 献

- 1) **Mattingly, R. F. & Huang, W. Y.**: Steroidogenesis of the menopausal and postmenopausal ovary. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **103**, 679 - 693 (1969).
- 2) **Vermeulen, A.**: The hormonal activity of the postmenopausal ovary. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, **42**, 247 - 253 (1976).
- 3) **西田悦郎**: 産科婦人科学領域における老年医学的研究, とくに閉経後婦人における副腎性 androgen の意義と応用. *日産婦誌*, **21**, 887 - 894 (1969).
- 4) **Hamburger, C.**: Normal urinary excretion of neutral 17 - ketosteroids with special reference to age and sex variations. *Acta Endocrinol. (Kbh)*, **1**, 19 - 37 (1948).
- 5) **Borth, R., Linder, A. & Riindel, A.**: Urinary excretion of 17 - hydroxy - corticosteroids and 17 - ketosteroids in healthy subjects, in relation to sex, age, body and height. *Acta Endocrinol.*, **25**, 33 - 44 (1957).
- 6) **Vande Wiele, R. L., MacDonald, P. C., Gurpide, E. & Lieberman, S.**: Studies on the secretion and interconversion of the androgens. p 275 - 310. In G. Pincus (ed.), *Recent Progr. Horm. Res.*, Vol. 19, Academic Press, New York and London, 1963.
- 7) **Baulieu, E. - E., Corpéchet, C., Dray, F., Emiliozzi, R., Lebeau, M - C., Mauvais - Jarvis, P. & Robel, P.**: An adrenal - secreted "androgen": Dehydroisoandrosterone sulfate. Its metabolism and a tentative generation on the metabolism of other steroid conjugates in man. p 411 - 500. In G. Pincus (ed.), *Recent Progr. Horm. Res.*, Vol. 21, Academic Press, New York and London, 1965.
- 8) **Sekihara, H. & Ohsawa, N.**: A radioimmunoassay for serum 11 - deoxy - 17 - ketosteroids. *Steroids*, **23**, 245 - 258 (1974).
- 9) **De Neve, L. & Vermeulen, A.**: The determination of 17 - oxosteroid sulphate in human plasma. *J. Clin. Endocrinol.*, **32**, 295 - 302 (1964).
- 10) **西田悦郎**: 産婦人科領域における副腎性 androgen に関する研究 1, dehydroepiandrosterone および glucocorticosteroids 投与の正常成熟および両側副腎剔除去勢雌ラット性器に及ぼす影響. *日産婦誌*, **15**, 1151 - 1158 (1963).
- 11) **西田悦郎**: Dehydroepiandrosterone および gonadotropin 混合投与の両側副腎摘除ラット卵巣に及ぼす影響. *日産婦誌*, **18**, 383 - 392 (1966).
- 12) **西田悦郎**: 個体保存からみた androgen 投与の功罪. *日内分泌会誌*, **44**, 842 - 850 (1968).
- 13) **Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Yamamoto, H. & Nishida, E.**: Effects of dehydroepiandrosterone acetate administration on postmenopausal woman with gynecological malignancies. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, **29**, 1011 - 1020 (1977).
- 14) **Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Seki, K., Yamashiro, G. & Nishida, E.**: Effects of surgical stress on concentrations of serum androgens in women. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, **31**, 737 - 746 (1979).
- 15) **Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Seki, K., Yamashiro, G. & Nishida, E.**: Influence of aging on serum dehydroepiandrosterone, DHA sulfate and 11 - deoxy - 17 - ketosteroids in women. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, **31**, 1871 - 1876 (1979).
- 16) **荒木克己・富田嘉昌・赤祖父一知・西田悦郎**: Dehydroepiandrosterone, DHA sulfate および acetate 投与の中・高年女性血中ホルモン値におよぼす影響. *日内分泌会誌*, **54**, 393 (1978).
- 17) **富田嘉昌**: 女性における血中 11 - deoxy - 17 - ketosteroid の動態に関する研究. *十全医会誌*, **88**, 210 - 232 (1979).
- 18) **富田嘉昌・荒木克己・関久美子・山城玄・赤祖父一知・西田悦郎**: 思春期女性の内分泌学的検討. *日産婦誌*, **31**, 1215 - 1216 (1979).
- 19) **瀬川秀隆**: Dehydroepiandrosterone の膈上皮に及ぼす影響に関する研究. *十全医会誌*, **86**, 190 - 219 (1977).
- 20) **林政宏**: Dehydroepiandrosterone, estriol, hCG 投与の副腎皮質に及ぼす形態学的変化に関する研究. *十全医会誌*, **87**, 698 - 723 (1978).
- 21) **細野泰**: Human menopausal gonadotropin および dehydroepiandrosterone 併用投与によるラット hyperprolactinemia に関する研究. *十全医会誌*, **88**, 816 - 830 (1979).
- 22) **杉田直道**: Dehydroepiandrosterone 投与ラットにおける膈上皮細胞の超微構造的変化に関する研究. *十全医会誌*, **88**, 798 - 815 (1979).
- 23) **石川宏**: Dehydroepiandrosterone 添加投与のラット deciduoma の増大作用. *日内分泌会誌*, **54**, 735 - 751 (1978).

- 24) 荒木克己: 女性における Dehydroepiandrosterone の動態に関する研究. 十全医会誌, **89**, 852 - 876 (1980).
- 25) 西田悦郎: 閉経後の女性, 現代産科婦人科学大系, **3A**, 269 - 287 頁, 東京, 中山書店. 1975.
- 26) Edgren, R. A.: The modification of estrogen-induced changes in rat vaginas with steroids and related agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **83**, 160 - 183 (1959).
- 27) Parker, A. S. & Deanesly, R.: The ovarian hormones, p570 - 828. In A. S. Parkes (ed.), *Marshall's Physiology of Reproduction*, Vol. III. Little Brown Co., Boston, 1960.
- 28) Peckham, B. M. & Kiekhofner, W.: Cellular behaviour in the vagina epithelium of estrogen-treated rats. *Am. J. Obstet. Gynec.*, **83**, 1021 - 1026 (1962).
- 29) Peckham, B. M., Ladinsky, J. & Kiekhofner, W.: Autoradiographic investigation of estrogen response mechanisms in rat vaginal epithelium. *Am. J. Obstet. Gynec.*, **87**, 710 - 716 (1963).
- 30) Peckham, B. M., Barash, H., Emlen, J., Kiekhofner, W. & Ladinsky, J.: Changes in vaginal cellular activity elicited by varying doses of natural and synthetic estrogens. *Expl. Cell Res.*, **30**, 339 - 343 (1963).
- 31) Parlanti, I. A. & Moris, B.: Microscopic study of the mucification of vaginal epithelium in immature and prepuberal rats. *Acta Anat.*, **106**, 370 - 377 (1980).
- 32) Holderegger, C.: Ultrastructural study of the mucification of the stratified epithelium of the mouse vagina. *Cell Tissue Res.*, **213**, 475 - 482 (1980).
- 33) Carlborg, L.: Quantitative determination of sialic acid in the mouse vagina. *Endocrinology*, **78**, 1093 - 1099 (1966).
- 34) Carlborg, L.: Comparative action of various oestrogenic compounds on mouse vaginal sialic acids (2). *Acta Endocrinol.*, **62**, 663 - 670 (1969).
- 35) Nishino, Y. & Newmann, F.: The sialic acid content in mouse female reproductive organs as a quantitative parameter for testing the estrogenic and anti-estrogenic effect, and dissociated effect of estrogens on the uterus and vagina. *Acta Endocrinol.*, **76**, 7 - 62 (1974).
- 36) Spicer, S. S.: A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.*, **8**, 18 - 35 (1960).
- 37) Spicer, S. S. & Warren, L.: Histochemistry of sialic acid containing mucoproteins. *J. Histochem. Cytochem.*, **8**, 135 - 137 (1960).
- 38) Warren, L. & Spicer, S. S.: Biochemical and histochemical identification of sialic acid containing mucins of rodent vagina and salivary glands. *J. Histochem. Cytochem.*, **9**, 400 - 408 (1961).
- 39) Gibbons, R. A. & Roberts, G.: Some aspects of the structure of macromolecular constituents of epithelial mucus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 218 - 232 (1963).
- 40) Dische, Z.: Reciprocal relation between fucose and sialic acid in mammalian glycoprotein. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 259 - 270 (1963).
- 41) Svennerholm, L.: Quantitative estimation of sialic acids. II. A colorimetric resorcinol-hydrochloric acid method. *Biochim. Biophys. Acta*, **24**, 604 - 611 (1957).
- 42) Svennerholm, L.: Sialic acids and derivatives: Preparation. Method, p453 - 462. In *Enzymology 6*, Academic Press. New York and London, 1963.
- 43) Warren, L.: The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J. Biol. Chem.*, **234**, 1971 - 1975 (1959).
- 44) 紺谷昭哉: 副腎性 androgen 及び各種ホルモン投与の雌ラット性器及び関連臓器に及ぼす組織化学的変化に関する研究. 十全医会誌, **78**, 32 - 49 (1969).
- 45) 中野栄喜: 副腎性 androgen の閉経後婦人の腔上皮に及ぼす影響に関する研究. 十全医会誌, **79**, 456 - 480 (1970).
- 46) Selye, H., Browne, J. S. L. & Collip, J. B.: Effect of combined administration of oestrogen and progesterone in adult ovariectomized rats. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **34**, 198 - 200 (1936).
- 47) Klien, M.: The mucification of the vaginal epithelium in rodents. *Proc. Roy. Soc. Biol.*, **124**, 23 - 29 (1937).
- 48) Seeger, J. G. E. & Astwood, E. B.: The significance of the estrogen: progesterone ratio on vaginal cornification in the rat. *Endocrinology*, **30**, 295 - 300 (1942).
- 49) Clarke, E. & Selye, H.: Further studies concerning the overt and masked actions of steroids. *Am. J. Physiol.*, **139**, 99 - 102 (1943).
- 50) Korenchevsky, V. & Dennison, M.: The

histological changes in the sex organs of spayed rats induced by testosterone and oestrone. *J. Pathol. Bact.*, **43**, 345 - 356 (1936).

- 51) **Edgren, R. A. & Calhoun, D. W.** : Multiple effects of oestrone and testosterone propionate in combination: simultaneous effects on vaginal keratinization and uterine growth. *Experientia*, **16**, 544 - 545 (1960).
- 52) **Landinsky, J. L., Gruchow, H. W. & Peckham, B. M.** : Cellular behaviour of the vaginal epithelium treated with testosterone propionate alone and in combination with diethylstilboestrol. *J. Endocrinol.*, **41**, 161 - 169 (1968).
- 53) **Kalvert, M. & Bloch, E.** : Conversion of 4 - C - dehydroepiandrosterone to estrone and 17 - estradiol by the rat ovary with observations on variations during the estrous cycle. *Endocrinology*, **82**, 1021 - 1026 (1968).
- 54) **Harper, M. J. K.** : Estrogenic effects of dehydroepiandrosterone and its sulfate in rats. *Endocrinology*, **84**, 229 - 235 (1968).
- 55) **MacDonald, P. C., Edman, C. D., Kerber, I. J. & Siiteri, P. K.** : Plasma precursors of estrogen III. Conversion of plasma dehydroisoandrosterone to estrogen in young nonpregnant women. *Gynecol. Invest.*, **7**, 165 - 175 (1976).
- 56) **Blix, G.** : Über die kolenhydratgruppen des Submaxillarismucins. *Hoppe - Seyl. Z.*, **240**, 43 - 47 (1936).
- 57) **Blix, G., Svennerholm, L. & Werner, I.** : The isolation of chondrosamine from gangliosides and from submaxillary mucin. *Acta Chem. Scand.*, **6**, 358 - 362 (1952).
- 58) **Gottschalk, A.** : The Chemistry and biology of sialic acid and related substances., p 40 - 64, Cambridge University Press, Cambridge, 1960.
- 59) **Tuppy, H. & Gottschalk, A.** : The structure of sialic acids and their quantitation. p 403 - 449. In A. Gottschalk (ed.), *Glycoproteins*. Vol. 5 part A. Elsevier Publication Co., Amsterdam, 1972.
- 60) **Rosado, A., Hicks, J. J., Aznar, R. & Manautou, J. M.** : Effect of the intrauterine contraceptive device upon the biochemical composition of human endometrium. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **114**, 88 - 92 (1972).
- 61) **Carlborg, L. & Gemzell, C.** : Sialic acid content and sperm receptivity of cervical mucus in

relation to oestrogen excretion following administration of FSH. *Acta Endocrinol.*, **62**, 711 - 720 (1969).

- 62) **Carlborg, L. Johansson, E. D. B. & Gemzell, C.** : Sialic acid content and sperm penetration of cervical mucus in relation to total urinary oestrogen excretion and plasma progesterone levels in ovulatory women. *Acta Endocrinol.*, **62**, 721 - 731 (1969).
- 63) **Chantler, E. & Debruyne, E.** : The relationship between the cervical glycosyl transferases and mucus rheology. p 77 - 83. In V. Insler & G. Bettendorf (ed.), *The uterine cervix in reproduction*. Georg Thieme Publishers Stuttgart, Stuttgart, 1977.
- 64) **Bhushana Rao, K. S. P. & Masson, P. L.** : Structure of cervical mucin. p 63 - 67, In V. Insler & G. Bettendorf (ed.), *The uterine cervix in reproduction*. Georg Thieme Publishers Stuttgart, Stuttgart, 1977.
- 65) **Soupart, P. S. & Clewe, T. H.** : Sperm penetration of rabbit zona pellucida inhibited by treatment of ova with neuraminidase. *Fertil. Steril.*, **16**, 677 - 689 (1965).
- 66) **Suttajit, M., Reichert, L. E. & Winzler, R.** : Effect of modification of N - acetylneuraminic acid on the biological activity of human and ovine follicle - stimulating hormone. *J. Biol. Chem.*, **25**, 3405 - 3408 (1971).
- 67) **Amir, S. M., Barker, S. A., Butt, W. R. & Crooke, A. C.** : The enhancement of follicle stimulating hormone activity by N - acetylneuraminic acid. *J. Endocrinol.*, **35**, 425 - 426 (1976).
- 68) **Amir, S. M., Barker, S. A., Butt, W. R. & Crooke, A. C.** : The enhancement of follicle - stimulating hormone activity by N - acetylneuraminic acid. *Nature*, **209**, 1092 - 1093 (1966).
- 69) **Groschel, W. & Li, C. H.** : On the carbohydrate moiety of ovine and human pituitary gonadotropins. *Biochim. Biophys. Acta*, **37**, 375 - 376 (1960).
- 70) **Rennels, E. G.** : Sialic acid concentrations in the pituitary glands of normal and castrated rats. *Endocrinology*, **76**, 994 - 995 (1965).
- 71) **Coppola, J. A. & Ball, J. L.** : Uterine sialic acid in relation to ovarian steroid. *Steroids*, **8**, 345 - 352 (1966).

- 72) Kennedy, T. G. & Ekmmens, C. W.: Effects of estrogen and progesterone on uterine sialic acid in ovariectomized rats. *Steroids*, **25**, 285 - 295 (1975).
- 73) Rajalaksmi, M., Prasad, M. R. N. & Mohla, S.: Effects of estrogen and clomiphene on uterine sialic acid in the rat during delayed implantation. *Steroids*, **14**, 47 - 54 (1969).
- 74) Sankaran, M. S. & Prasad, M. R. N.: The effect of cis- and trans-clomiphene citrate on sialic acid in the uterus, cervix and vagina of rats during delayed implantation. *J. Reprod. Fert.*, **35**, 203 - 210 (1973).
- 75) Wesphal, U., Stroupe, S. D. & Cheng, S. L.: Progesterone binding to serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **286**, 10 - 28 (1977).
- 76) Shibata, K., Okubo, H., Ishibashi, H. & Tsuda, K.: Rat α_1 -acid glycoprotein. Purification and immunological estimation of its serum concentration. *Biochim. Biophys. Acta*, **495**, 37 - 45 (1977).
- 77) Schmid, K., Nimberg, B., Kumura, A., Yamaguchi, H. Binette, J. P.: The carbohydrate units of human plasma α_1 -acid glycoprotein. *Biochim. Biophys. Acta*, **492**, 291 - 302 (1977).
- 78) Kennedy, T. G. & Armstrong, D. T.: Extra-ovarian effect of prolactin on vaginal mucification in the rats. *Endocrinology*, **90**, 815 - 822 (1972).
- 79) Kennedy, T. G. & Armstrong, D. T.: Lack of specificity for the extra-ovarian prolactin effect on vaginal mucification in rats. *Endocrinology*, **92**, 847 - 852 (1973).
- 80) Josimovich, J. B. Wilson, E. L. & Leff, A.: Vaginal mucification induced by pituitary prolactin and placental lactogen in mice. *Gynecol. Invest.*, **1**, 210 - 220 (1970).
- 81) Kennedy, T. G. & Gidley-Baird, A. A.: Extra-ovarian effects of bovine prolactin and growth hormone on the vagina of the mouse. *Aust. J. Biol. Sci.*, **28**, 339 - 404 (1975).

Effects of Administration of Dehydroepiandrosterone Acetate on Serum Proteohormone Levels and Sialic Acid Concentrations of Genital Organs Shozo Oosaki, Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. E. Nishida), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — J. Juzen Med. Soc., **91**, 387—402 (1982)

Key words: Sialic acid, Vaginal mucification, Dehydroepiandrosterone, Proteohormone

Abstract

The studies were made on the effects of adrenal androgens in bilaterally ovariectomized and non-ovariectomized female rats. Intramuscular administration of 2, 5, or 20 mg/day of dehydroepiandrosterone acetate (DHA-Ac) was made for three and seven days. Serum levels of follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) and prolactin (PRL) were measured by means of radioimmunoassay. Concentrations of sialic acid (SA) in serum and in vaginal tissues were measured by means of thiobarbituric method with hydrolysis and eluting by resin column. Effects of DHA-Ac administration were as follows; a moderate decrease in FSH, a marked decrease in LH, a marked increase in PRL with a peak at 3 pm in the day, and a significant decrease in serum SA. The increase of serum PRL after injection of DHA-Ac was completely suppressed by pre-treatment of 2-bromo- α -ergocryptine. Uterine SA concentration increased slightly after administration of DHA-Ac in both biovariectomized and normal rats. Vaginal SA levels of bilaterally ovariectomized rats were $39.1 \pm 5.2 \mu\text{g}/100\text{mg}$. When DHA-Ac 5 mg/day for 3 or 7 days was given to bilaterally ovariectomized rats, the levels were 70.6 ± 5.4 and $108.6 \pm 5.5 \mu\text{g}/100\text{mg}$, respectively. When DHA-Ac 20 mg/day for 3 or 7 days was given to bilaterally ovariectomized rats, the levels were 45.9 ± 1.1 and $42.8 \pm 3.0 \mu\text{g}/100\text{mg}$, respectively. Vaginal SA levels were increased by the dose of DHA-Ac, but when the dose of DHA-Ac was exceeding 20 mg/day, the vaginal SA levels were decreased. These results indicate that there is optimum dose of DHA-Ac for increase of vaginal SA concentration. Vaginal SA levels of non-ovariectomized rats were $34.3 \pm 1.6 \mu\text{g}/100\text{mg}$. When DHA-Ac 5 mg/day for 3 or 7 days was given, the levels were 36.4 ± 2.5 and $83.1 \pm 5.0 \mu\text{g}/100\text{mg}$, respectively. When DHA-Ac 20 mg/day for 3 or 7 days was given the levels were 38.2 ± 3.1 and $92.9 \pm 3.5 \mu\text{g}/100\text{mg}$. These results indicate that the relationship between vaginal SA concentrations and the dose of DHA-Ac was influenced by the conditions with or without the ovary. It is suggested that SA concentrations in the vaginal tissue determine the degree of mucification on the vaginal epithelium induced by DHA-Ac administration.